

分类号\_\_\_\_\_

密级\_\_\_\_\_

UDC\_\_\_\_\_

编号\_\_\_\_\_

# 厦 门 大 学

## 博 士 后 研 究 工 作 报 告

### MEN1 小鼠模型的糖代谢表型和机制

高钟秀子

工作完成日期 2013 年 10 月—2016 年 8 月

报告提交日期 2016 年 9 月

厦 门 大 学

2016 年 9 月

# **MEN1 小鼠模型的糖代谢表型和机制**

## **Glucose metabolic phenotypes and mechanisms in MEN1 mouse model**

博 士 后 姓 名 高钟秀子

流动站（一级学科）名称 生物学流动站

专 业（二级学科）名称 生物化学与分子生物学

研究工作起始时间 2013 年 10 月

研究工作期满时间 2016 年 8 月

厦 门 大 学

2016 年 9 月

# 厦门大学博士后研究工作报告

## 著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用博士后研究工作报告的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交该报告的纸质版和电子版，有权将该报告用于非赢利目的的少量复制并允许该报告进入学校图书馆被查阅，有权将该报告的内容编入有关数据库进行检索，有权将博士后研究工作报告的标题和摘要汇编出版。保密的博士后研究工作报告在解密后适用本规定。

本研究报告属于： 1、保密（ ）， 2、不保密（ ）

纸本在 年解密后适用本授权书；

电子版在 年解密后适用本授权书。

（请在以上相应括号内打“√”）

作者签名： 日期： 年 月 日

导师签名： 日期： 年 月 日

## 摘 要

I 型多发性内分泌肿瘤（MEN1）是一种常染色体显性遗传综合征，以在甲状旁腺、内分泌胰腺和垂体前叶中的多种肿瘤发生为特征。最近的临床研究显示 MEN1 综合征和糖尿病发病风险之间具有很强的相关性；但是，潜在的机制尚不清楚。在本次研究中，杂合型 *Men1* 敲除（*Men1*<sup>+/-</sup>）小鼠用作 MEN1 模型来研究 MEN1 相关的葡萄糖代谢表型和机制。在 12 个月大的雄性小鼠中 *Men1* 的杂合型缺失能够引起空腹高血糖症，同时伴随血清胰岛素水平的增加。然而，正如肝脏组织中 Akt 的激活和胰岛素耐量实验证实的那样，雄性 *Men1*<sup>+/-</sup> 小鼠并未表现出胰岛素抵抗。给予丙酮酸盐后血糖水平的升高以及关键糖异生基因表达的增加表明在雄性 *Men1*<sup>+/-</sup> 小鼠中肝葡萄糖输出的增加。这种作用可能部分是由于基础血清胰高血糖素水平较高，后者来自 *Men1* 杂合型缺失诱导的胰岛细胞增殖。总之，我们的结果表明在 MEN1 发展的早期阶段，空腹的雄性 *Men1*<sup>+/-</sup> 小鼠表现为葡萄糖代谢紊乱。这些紊乱并非由胰岛素抵抗的直接诱导导致，而是通过增加胰高血糖素的分泌进而刺激了肝葡萄糖的生成所致。

**关键词：***Men1*；胰高血糖素；糖异生；肝葡萄糖输出；胰岛素抵抗

## Abstract

Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1) is an autosomal dominant inherited syndrome characterized by multiple tumors in the parathyroid glands, endocrine pancreas and anterior pituitary. Recent clinical studies have revealed a strong association between MEN1 syndrome and the risk of developing diabetes mellitus; however, the underlying mechanisms remain unknown. In this study, heterozygous *Men1* knockout (*Men1*<sup>+/-</sup>) mice were used as MEN1 models to investigate MEN1-associated glucose metabolic phenotypes and mechanisms. Heterozygous deficiency of *Men1* in 12-month-old male mice induced fasting hyperglycemia, along with increased serum insulin levels. However, male *Men1*<sup>+/-</sup> mice did not show insulin resistance, as evidenced by Akt activation in hepatic tissues and an insulin tolerance test. Increased glucose levels following pyruvate challenge and expression of key gluconeogenic genes suggested increased hepatic glucose output in the male *Men1*<sup>+/-</sup> mice. This effect could be partly due to higher basal serum glucagon levels, which resulted from pancreatic islet cell proliferation induced by heterozygous loss of *Men1*. Taken together, our results indicate that fasted male *Men1*<sup>+/-</sup> mice, in the early stage of development of MEN1, display glucose metabolic disorders. These disorders are caused not by direct induction of insulin resistance, but via increased glucagon secretion and the consequent stimulation of hepatic glucose production.

**Keywords:** *Men1*; glucagon; gluconeogenesis; hepatic glucose output; insulin resistance

# 目 次

1 文献综述 .....	1
1.1 Menin:在遗传性肿瘤综合征中突变的蛋白质 .....	1
1.2 Menin 与参与调节基因转录和细胞信号的蛋白质相互作用 .....	2
1.3 Menin 的晶体结构及其相互作用的伴侣 .....	3
1.4 Menin 激活基因转录 .....	4
1.5 Menin 抑制基因转录 .....	6
1.6 Menin 调节多种信号途径 .....	8
1.6.1 TGF $\beta$ 信号途径 .....	8
1.6.2 BMP 信号 .....	8
1.6.3 Wnt 信号 .....	8
1.6.4 核受体信号 .....	9
1.6.5 Ras 信号 .....	9
1.6.6 Akt 和 FOXO 信号 .....	10
1.6.7 Hedgehog 信号 .....	10
1.7 各种蛋白和信号途径对 menin 的调控 .....	10
1.7.1 催乳素途径 .....	10
1.7.2 TGF $\beta$ 途径 .....	10
1.7.3 生长抑素途径 .....	11
1.7.4 葡萄糖和磷酸肌醇 3-激酶 (PI3K) /Akt 途径 .....	11
1.7.5 K-Ras 诱导的 DNA 甲基化或 miRNA 沉默 <i>MEN1</i> 的表达 .....	11
1.7.6 Menin 的翻译后修饰 .....	11
1.7.7 Menin 介导的基因组完整性的调控 .....	11
1.8 结束语 .....	12
2 前言 .....	13
3 材料与方法 .....	14

4 结果 .....	28
4.1 雄性 <i>Men1</i> <sup>+/-</sup> 小鼠表现为空腹高血糖 .....	28
4.2 雄性 <i>Men1</i> <sup>+/-</sup> 小鼠并不表现胰岛素抵抗 .....	31
4.3 雄性 <i>Men1</i> <sup>+/-</sup> 小鼠表现为肝葡萄糖输出增加 .....	34
4.4 在雄性 <i>Men1</i> <sup>+/-</sup> 小鼠中空腹高血糖与胰岛增殖和空腹血清胰高血糖素水平的增加有关 .....	36
4.5 参与脂代谢和糖代谢的其他血清激素 .....	40
5 讨论 .....	44
5.1 MEN1 小鼠模型的糖代谢表型和机制 .....	44
5.2 MEN1 小鼠模型糖代谢表型的动态变化 .....	46
5.3 MEN1 小鼠模型的脂代谢表型和机制 .....	46
5.4 展望和总结 .....	46
6 结论 .....	48
参考文献 .....	49
致谢 .....	64
博士生期间研究成果 .....	65
博士后期间研究成果 .....	68
个人简历 .....	69

# 1 文献综述

蛋白质 *menin* 由 *MEN1* 基因编码，后者在多发性内分泌肿瘤 1 型（MEN1）综合征患者中发生突变。虽然 *menin* 在内分泌器官中充当肿瘤抑制因子，但是它同样为小鼠模型的白血病转化所必需。*Menin* 拥有这些不同的功能，可能是因为它既能正性又能负性调节基因表达，并且与大量具有不同功能的蛋白质相互作用。这里，我们综述了最新进展以理解 *menin* 发挥功能的分子机制。*Menin* 的晶体结构拥有不同的结合元件，表明 *menin* 是一个关键的支架蛋白，在功能上与各种元件相互作用来调节基因转录并与多个信号通路相互影响。

## 1.1 *Menin*:在遗传性肿瘤综合征中突变的蛋白质

*Menin* 蛋白由 *MEN1* 基因编码，后者在 MEN1 综合征患者中发生突变<sup>[1,2]</sup>。MEN1 综合征是一种显性遗传性疾病，以内分泌器官（包括垂体、甲状旁腺和胰岛）的肿瘤形成为特征<sup>[3-7]</sup>。大多数患有这种疾病的患者有一个 *MEN1* 基因的种系突变，伴有内分泌肿瘤中 *MEN1* 等位基因的杂合性缺失（LOH），表明 *menin* 在内分泌器官中是一个肿瘤抑制因子。这些突变扩展到整个基因的编码区，无明显突变热点<sup>[5,8]</sup>。*MEN1* 在散发的甲状旁腺<sup>[9]</sup>和胰腺内分泌肿瘤<sup>[8,10]</sup>患者中也经常发生突变。杂合性 *Men1* 突变小鼠表型模拟人类 MEN1 综合征<sup>[11-13]</sup>。小鼠中完全性 *Men1* 缺失会导致胚胎致死（E11.5-13.5），并伴有多个器官缺陷<sup>[11]</sup>。

*Menin* 包括 610 个氨基酸残基，从果蝇到人类高度保守<sup>[14]</sup>，但未见于酵母和线虫，表明其在进化上是一个相对较新的基因。虽然 *menin* 在小鼠胚胎发育过程中广泛表达于各个器官<sup>[15,16]</sup>，但其功能呈现组织特异性；有时在不同器官之间表现为相反的作用。例如，它在内分泌器官中可以抑制肿瘤发生，但对白血病的发生却至关重要<sup>[17,18]</sup>。

已经报道 *menin* 在其他几个器官中起着抑制增生或肿瘤发生的作用，如肺<sup>[19,20]</sup>、前列腺<sup>[21]</sup>和乳腺<sup>[22]</sup>，并加速了小鼠模型中糖尿病的发病<sup>[23-25]</sup>。*Menin* 也影响其他器官的功能，如骨<sup>[26-31]</sup>和肝<sup>[32,33]</sup>。虽然对于 *menin* 如何影响这些器官的具体机制还不太清楚，但是它很可能通过调节各种不同的信号途径来发挥功能。*Menin* 自身也受多个信号蛋白[如催乳素<sup>[23]</sup>和转化生长因子（TGF）- $\beta$ <sup>[34]</sup>] 以及翻译后修饰（如磷酸化和



SUMO 化) 的调控。另外, MEN1 疾病相关的单氨基酸替代物能够通过蛋白酶体途径增强聚泛素化和降解<sup>[35-38]</sup>。

Menin 缺乏与其他蛋白质同源的结构域, 因此, 阐明其生化功能是具有挑战性的。正因如此, 许多小组做了很多努力以确定与 menin 相互作用的蛋白质, 希望发现有关 menin 如何从生化上抑制肿瘤发生的线索<sup>[39,40]</sup>。这些 menin 伴侣提供了有关 menin 生化功能的有价值的信息。然而, 详细的潜在的结构性机制尚不清楚。近来在阐明 menin 晶体结构方面的进展, 再加上 menin 与各个信号途径相互作用的启示, 为阐明 menin 如何调控基因表达和细胞信号提供了新的见解<sup>[41,42]</sup>。这篇综述聚焦于 menin 作为一个支架蛋白如何调控基因表达并与多个信号途径相互作用调控细胞行为的最新进展。某些研究在一个细胞系或一个模型系统中进行, 并且在一些情况下只进行了有限数量的研究, 因此, 在这些情况下概括 menin 的作用和潜在机制要谨慎。

## 1.2 Menin 与参与调节基因转录和细胞信号的蛋白质相互作用

虽然 menin 广泛表达, 但是其表达水平在各组织间有所不同<sup>[15,23,43]</sup>。Menin 主要是核蛋白, 但是少量也可在细胞质甚至细胞膜上检测到。其核定位序列 (NLSs) 位于其 C 端区域, 能够以序列非依赖性方式直接与 DNA 相互作用<sup>[44,45]</sup>。与 menin 相互作用的蛋白可以分为四个主要类别: 转录激活因子、转录抑制因子、细胞信号蛋白和其他具有不同功能的相互作用伴侣 (从 DNA 修复的调节到细胞结构的完整性) (图 1.1A)。与 menin 相互作用的转录激活因子包括转录因子 c-Myb、蛋白质能量营养不良 (Pem) 和 Runt 相关转录因子 (Runx) 2<sup>[29,31,46,47]</sup>、同源盒蛋白 Hlx9<sup>[48]</sup>和组蛋白修饰因子如混合系白血病蛋白 (MLL) -1 和-2 以及组蛋白 H3 赖氨酸 4 (H3K4) 甲基转移酶<sup>[49,50]</sup>。与 menin 直接或间接相互作用的转录抑制因子包括转录因子 JunD、核因子 (NF)  $\kappa$ B<sup>[51,52]</sup>、组蛋白去乙酰化酶 (HDAC) 1/2、组蛋白去乙酰化酶 Sirt1 (sirtuin 家族蛋白成员)、组蛋白 H3 赖氨酸 27 甲基转移酶 EZH2 以及蛋白质精氨酸甲基转移酶 (PRMT) 5<sup>[20,53-55]</sup>。值得注意的是, menin 也与多种介导一些信号途径的蛋白质相互作用, 如 SMAD 蛋白 (转导 TGF $\beta$  信号)<sup>[29,56]</sup>;  $\beta$ -连环素 (Wnt 信号途径成员)<sup>[57-60]</sup>; 核受体如雌激素受体和过氧化物酶体增殖激活受体 (PPAR)  $\gamma$ ; 以及 Ras 激活蛋白 Son of Sevenless (SOS) 1<sup>[19,61,62]</sup>。Menin 及其多种相互作用蛋白之间的相互作用对模式生物的生理和遗传影响还有待探索。

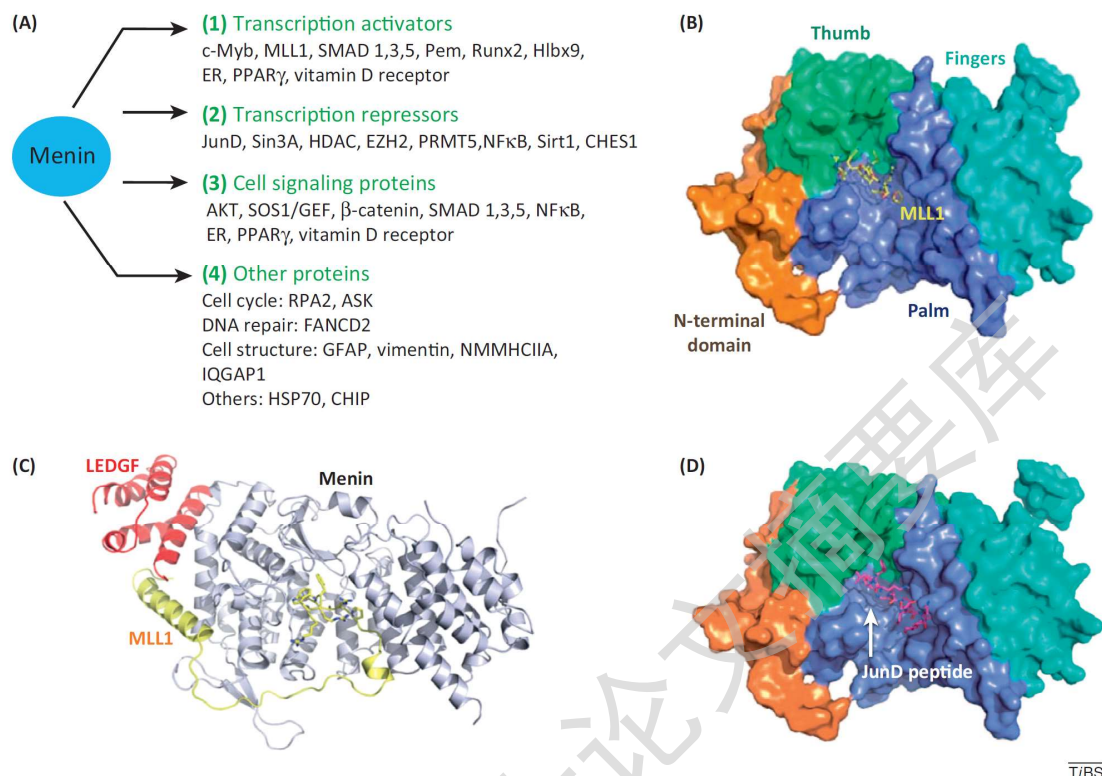


图 1.1 与 menin 相互作用的蛋白和 menin 及其相互作用蛋白的结构

基于细胞和生化研究,有学者提出 menin 可能作为一种支架或衔接蛋白与其他蛋白相互作用来调控基因转录<sup>[45,63]</sup>。这个概念与以下观察相一致:在凝胶过滤色谱法中 menin 以广谱形式分布<sup>[54]</sup>,并且在各种细胞系中 menin 可以结合到数千个基因位点<sup>[64,65]</sup>。然而,直到最近 menin 的晶体结构仍然未知,阻碍了对 menin 如何与其伴侣相互作用来发挥功能的理解。

### 1.3 Menin 的晶体结构及其相互作用的伴侣

许多小组已经做出了很大的努力来解决 menin 的晶体结构。获得高质量的 menin 蛋白晶体以破译其结构是很具挑战性的。然而, Huang 等和 Murai 等最近已经成功解决了 menin 单独<sup>[41,42]</sup>、在同 MLL1 多肽的复合物中(图 1.1B)、在同 MLL1 和晶状体上皮来源的生长因子(LEDGF)的三元复合物中(图 1.1C)或同 JunD 多肽的复合物中(图 1.1D)<sup>[41]</sup>的结构。

Menin 的晶体结构看起来像一个弯曲的左手,其中 N 端结构域由类似于一个拇指的长  $\beta$  发夹,转谷氨酰胺酶样的结构域表示;中间区域采用手掌的形状;C 端类似于弯曲的手指(图 1.1B)。值得注意的是,手掌形成了一个深口袋,被保守的 MLL1 多肽所占据(图 1.1B)。诱变研究表明 MLL1 或 menin 口袋中的残基可以介导

menin-MLL1 之间的相互作用，对彼此的结合以及对 menin 介导的 Hox 基因的上调至关重要<sup>[41]</sup>。

生化研究表明 menin 不仅与 MLL1 相互作用，而且同时与 LEDGF 相互作用后者是一种对 MLL-AF9 诱导的白血病很重要的蛋白<sup>[63]</sup>。Menin-MLL1-LEDGF 的晶体结构清楚地表明 MLL1 的 N 端区域（黄色，图 1.1C）结合 menin 的深部中心口袋，并且 MLL1 的下游序列环绕 menin 的 N 端部分形成了一个  $\alpha$  螺旋直接接触 menin 的 N 端。在 V 型结构的顶部（由 MLL1 的  $\alpha$  螺旋和 menin 的 N 端部分的表面共同形成），LEDGF（红色，图 1.1C）直接与 MLL1 和 menin 相互作用。这是表明 menin 作为支架蛋白与多种蛋白相互作用的有力证据。与此观点一致的是，在 LEDGF 相互作用位点上 menin 的突变降低了 menin 促进 Hoxc8 表达的能力。需要进一步的工作以明确 menin 如何在结构上与其他伴侣相互作用。

类似于与 MLL1 的相互作用，menin 也可以通过其中心口袋结合 JunD。JunD 结合 menin 的区域跨越残基 27-47，被称为 menin 结合模序（JunD<sub>MBM</sub>）（图 1.1D）<sup>[41]</sup>。JunD<sub>MBM</sub> 与结合 menin 的 MLL1 多肽（MLL1<sub>MBM</sub>）的比较显示了一个保守的序列（FPXXP）。的确，menin 和 JunD 多肽的共晶体表明 JunD<sub>MBM</sub> 和 MLL1<sub>MBM</sub> 以相同的方向结合 menin 口袋（图 1.1B, D）。MLL1<sub>MBM</sub> 有效竞争 JunD 与 menin 的结合<sup>[41]</sup>，表明 menin 可以使用相同的口袋结合 MLL1 或 JunD。MLL2 也可以通过类似的保守序列结合 menin。Menin 是否也能够与含有相似序列的其他蛋白相互作用仍有待确定。Menin 与 MLL1 的结合用于募集这些蛋白到基因的启动子，从而增加基因转录<sup>[41]</sup>。

#### 1.4 Menin 激活基因转录

Menin 上调细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子(CDKIs)p18 和 p27 的表达<sup>[43,66,67]</sup>，从而降低  $\beta$  细胞的增殖。它至少部分通过 MLL1 来激活 CDKIs 的转录。MLL1 可以增加三甲基化到组蛋白 H3 赖氨酸 4 (H3K4me3)，后者是一种与转录激活有关的染色体修饰<sup>[48,66,67]</sup>（图 1.2A）。与这些发现相一致，在  $\beta$  细胞特异性 *Men1* 敲除小鼠模型中，视网膜母细胞瘤结合蛋白 2 (Rbp2，一种组蛋白 H3 赖氨酸 4 的去甲基化酶) 的遗传消融可以减少胰岛素瘤的发生<sup>[68]</sup>。DNA 序列特异性因子是否可以招募 menin-MLL1 到基因座仍不清楚。

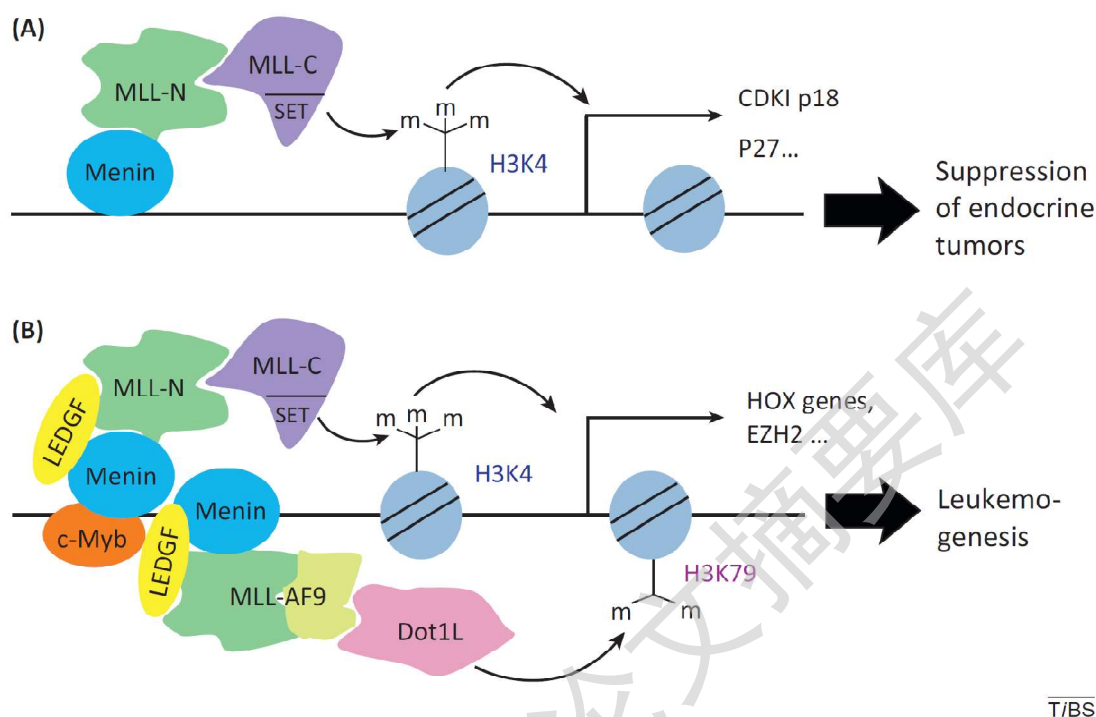


图 1.2 Menin 作为一种支架蛋白组织特异性激活基因转录

MLL1 基因可以与各种伴侣基因之一发生染色体易位，导致 MLL1 融合蛋白 (MLL-FPs) 的表达，后者能够诱发白血病。在这些情况下，c-Myb 可以驱动白血病。c-Myb 是一个转录因子，可以直接结合 menin 并且有可能募集 MLL1-FP、野生型 (WT) MLL1 和 LEDGF 到 *Hoxa9* 和 *Meis1* 基因位点以促进其表达 (图 1.2B) [41,46,63,69]。在这些白血病细胞中 menin 的缺失可以废除 WT MLL1 和 MLL1-FPs 的募集并且降低这些基因位点的 H3K4me3，表明 menin 是 MLL1 发挥功能的重要辅助因子 (图 1.2B) [70]。与它们促进 *Hoxa9* 和 *Meis1* 表达的作用相一致，在与增强转录激活有关的复合物中发现了 MLL1-FPs，包括组蛋白甲基转移酶、含有 Dot1L 的复合物 [可以甲基化组蛋白 3 赖氨酸 79 (H3K79)] 以及正转录延伸因子 (pTEFb) 复合物 (介导转录延伸) [71,72]。

由于 menin 通过与各种伴侣 (如 MLL1 和 MLL1-FP) 相互作用在调节基因表达中发挥重要的作用，所以开发了阻断 menin-MLL1 相互作用的小分子抑制剂。这些抑制剂可以抑制 menin-MLL1 依赖的 *Hox* 基因的表达，而且抑制 MLL1 融合转化的白血病细胞的增殖 [73]。这些发现支持针对伴有 MLL1 重排的侵袭性白血病的新的治疗策略。这些 menin 抑制剂的进一步优化产生了另一种复合物 (MI-2-2)，后者可以以低纳摩尔亲和力结合到 menin [K (d) = 22 nM]，并有效破坏 menin 与 MLL1 之间的相

互作用<sup>[74]</sup>。此外，用 MI-2-2 与人 menin 蛋白共结晶可以提供高分辨率的结构，表明了 menin 和 MI-2-2 之间密切的相互作用。与较早的化合物相比，MI-2-2 提高了阻断 menin-MLL1 相互作用以及 *Hox* 基因表达的疗效<sup>[74]</sup>。这些发现为设计更好的抑制剂来有效抑制 menin-MLL1 之间的相互作用提供了一个结构基础。

### 1.5 Menin 抑制基因转录

已经表明 menin 可以直接或间接地抑制基因转录。最近的研究确定了更多能够通过 menin 相互作用抑制基因转录的因子，如各种染色质修饰酶。Menin 也调节 miRNAs 的表达，间接调控转录后的表达。此外，menin 直接与 JunD 相互作用，并通过其与辅助抑制因子哺乳动物 sin3 蛋白 (mSin3A) 的相互作用及其相关的 HDAC 抑制 JunD 诱导的转录 (图 1.3A) <sup>[50,55]</sup>。它也可以通过抑制细胞周期蛋白 B2 的表达 (部分通过招募 HDAC3 至其启动子) 来抑制 G2-M 期相变<sup>[76]</sup>。

Menin 通过一种竞争结合伴侣的新机制来抑制 JunD 介导的基因转录<sup>[41]</sup>。c-Jun 的 N 端激酶 (JNK) 在正常情况下可以磷酸化 JunD，激活 JunD 诱导的基因表达。在 JunD 中的 JNK 对接结构域 (D 结构域) 包含一组碱性氨基酸。JunD<sub>MBM</sub> 序列与推定的 JunD 的 D 结构域 (JunDD) 部分重叠 (图 1.3B) <sup>[77]</sup>。JunDD 中的碱性残基和亮氨酸残基对 JNK 结合并磷酸化 JunD 以及与 menin 的结合来说是必不可少的 (图 1.3B)。正因如此，menin 与 JunD 的结合可以阻断 JNK 介导的 JunD 的磷酸化和激活。Menin 和 JunD 均可结合到内源性 *Gastrin* 基因的启动子并抑制其表达<sup>[41]</sup>。这些发现为 menin 介导的 JunD 活性的抑制揭开了一个新的方法并为抑制机制提供了一个结构基础 (图 1.3B)。这些发现也有助于解释为什么在缺乏 menin 的情况下 JunD 可以激活小鼠胚胎成纤维细胞 (MEFs) 的增殖，但在其存在的情况下抑制其增殖。据推测，JunD 可以结合促增殖基因的启动子，menin 的存在或缺乏分别控制 JunD 是否抑制或激活这些基因的表达<sup>[78]</sup>。

Menin 也可以直接与 NF- $\kappa$ B 的 p65 亚单位相互作用，抑制 NF- $\kappa$ B 依赖的转录<sup>[51]</sup>。近来报道在肝细胞癌细胞中，menin 可以通过招募 Sirt1 (一种组蛋白去乙酰基酶) 去乙酰化 p65 的赖氨酸 310 (K310) 来抑制 NF- $\kappa$ B 介导的转录<sup>[53]</sup>。目前还不清楚 menin 诱导以及 Sirt1 介导的 p65 的去乙酰化是否可以抑制 NF- $\kappa$ B 内源性靶点的表达。

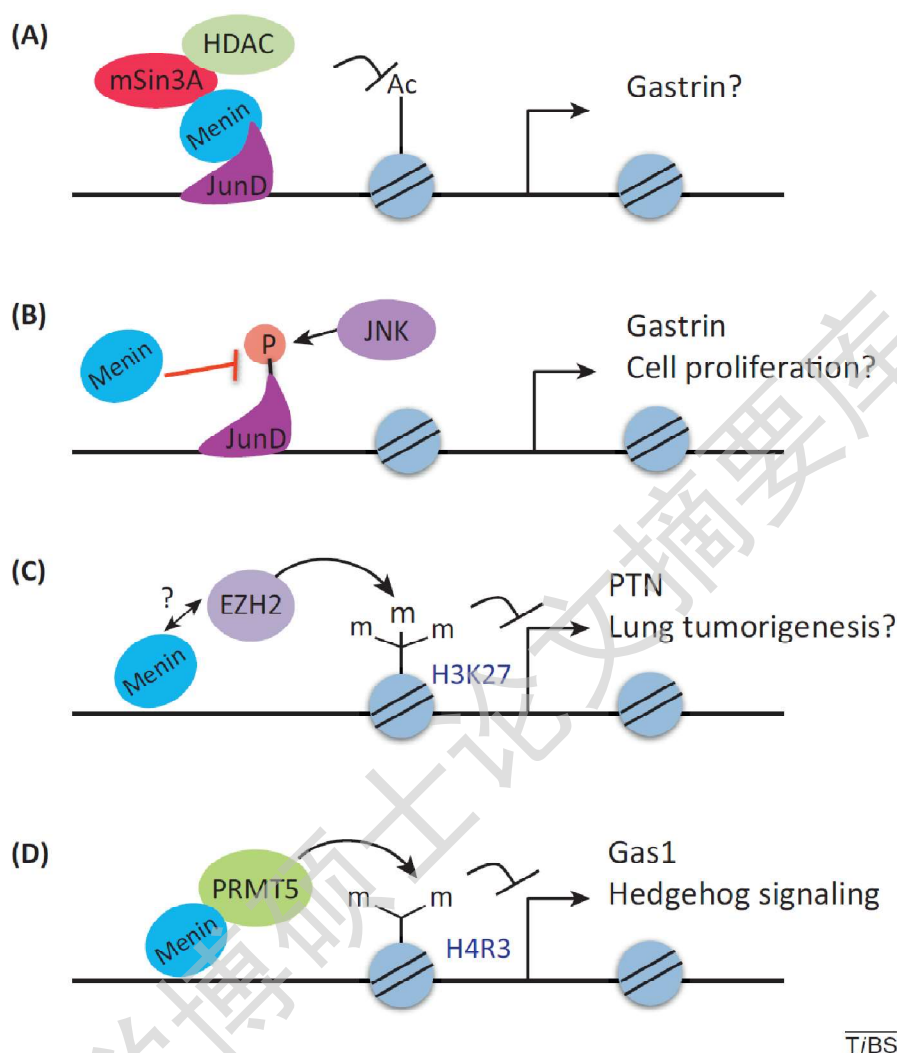


图 1.3 Menin 通过多种机制抑制基因表达

也有报道表明在肺癌细胞中 menin 可以抑制 *PTN* 基因的表达，后者编码促增殖受体 pleotrophin<sup>[20]</sup>。Menin 和多梳抑制复合物（PRC）2 均可结合到 *PTN* 基因的启动子并增加该位点处抑制性染色质标记物 H3K27me3（图 1.3C）。Menin 和 EZH2（一种催化 H3K27 三甲基化的 PRC2 酶）之间直接的相互作用尚未得到证实。

Menin 也直接与 PRMT5（一种基因转录的负性调节因子）相互作用<sup>[54]</sup>，招募其至 *Gas1* 基因[Sonic hedgehog（Shh）配体与其受体结合的关键因子]的启动子<sup>[79]</sup>。因此，menin 部分通过增加 *Gas1* 启动子上 PRMT5 介导的抑制性组蛋白精氨酸二甲基化来拮抗 Shh 信号（图 1.3D）。

据报道 menin 可以通过上调 miRNA 的表达在转录后水平抑制基因表达，后者可以降低蛋白翻译或靶 mRNA 的稳定性。Menin 可以通过结合 miR-26a 基因的启动子来诱导 miRNA-26a（miR-26a）的表达<sup>[80]</sup>。miR-26a 靶向降低骨形态发生蛋白（BMP）

信号效应因子 SMAD1 的表达，拮抗 BMP 诱导的人脂肪组织来源的干细胞的成骨细胞分化。有趣的是，*menin* 也可以通过在靶基因位点处结合 SMADs 并促进 SMAD 靶基因的表达式来促进 BMP 信号。因此，*menin* 对 miR-26a 的诱导对于 *menin* 介导的 BMP 信号很可能是一种阻止或脱敏机制（图 1.4）。这些不同的模式是否或者如何在不同类型的细胞中或对不同的靶基因操作目前仍不清楚。

## 1.6 Menin 调节多种信号途径

### 1.6.1 TGF $\beta$ 信号途径

在 COS 细胞中 *menin* 直接与 TGF $\beta$  下游信号分子 SMAD3 相互作用<sup>[56]</sup>。在 GH4C1 细胞中（一种垂体内分泌肿瘤细胞系），*menin* 敲低（KD）会减少 SMAD3 与 DNA 的结合，这表明了 *menin* 在招募 SMAD3 至靶基因从而调节其表达中的作用。一致的是，*menin* 敲低会减少 TGF $\beta$  诱导的增殖抑制作用<sup>[56]</sup>。

### 1.6.2 BMP 信号

*Menin* 也调节 BMP 信号，后者是骨发育的关键<sup>[29]</sup>。与这一作用一致的是，*Men1* 敲除胚胎表现为颅面发育缺陷<sup>[29]</sup>。BMP 依赖性多能间充质干细胞向成骨细胞系的分化需要 *menin*，而且 *menin* 通过其与 BMP 效应因子 SMAD1/5 及其结合伴侣 Runx2 之间的相互作用促进这种分化<sup>[31]</sup>。在分化的后期阶段，*menin* 很可能通过抑制 JunD 的功能来抑制分化<sup>[30]</sup>。这些结果表明 *menin* 介导的各种信号途径的调节不仅具有组织特异性，而且对分化的某个阶段特异。

### 1.6.3 Wnt 信号

Wnt 信号可能通过增加成对同源结构域（Pitx2）的表达来刺激胰岛  $\beta$  细胞的增殖<sup>[81]</sup>。Wnt 对  $\beta$  细胞的至少部分作用是由经典的 Wnt 效应因子和转录因子  $\beta$ -连环素介导的。在 MEFs 中，*menin* 的过表达会降低  $\beta$  连环素的核积累及其转录活性（图 1.4）<sup>[58]</sup>。相反，在培养的啮齿动物的胰岛肿瘤细胞中 *menin* 通过与  $\beta$  连环素相互作用成为经典的 Wnt/ $\beta$ -连环素信号的关键<sup>[59]</sup>。*Menin* 可能在胰岛肿瘤发育的某些阶段促进 Wnt 信号或抑制 Wnt 信号以防止  $\beta$  细胞的肿瘤发生（图 1.4）。更详细的生化和遗传机制尚待探索。



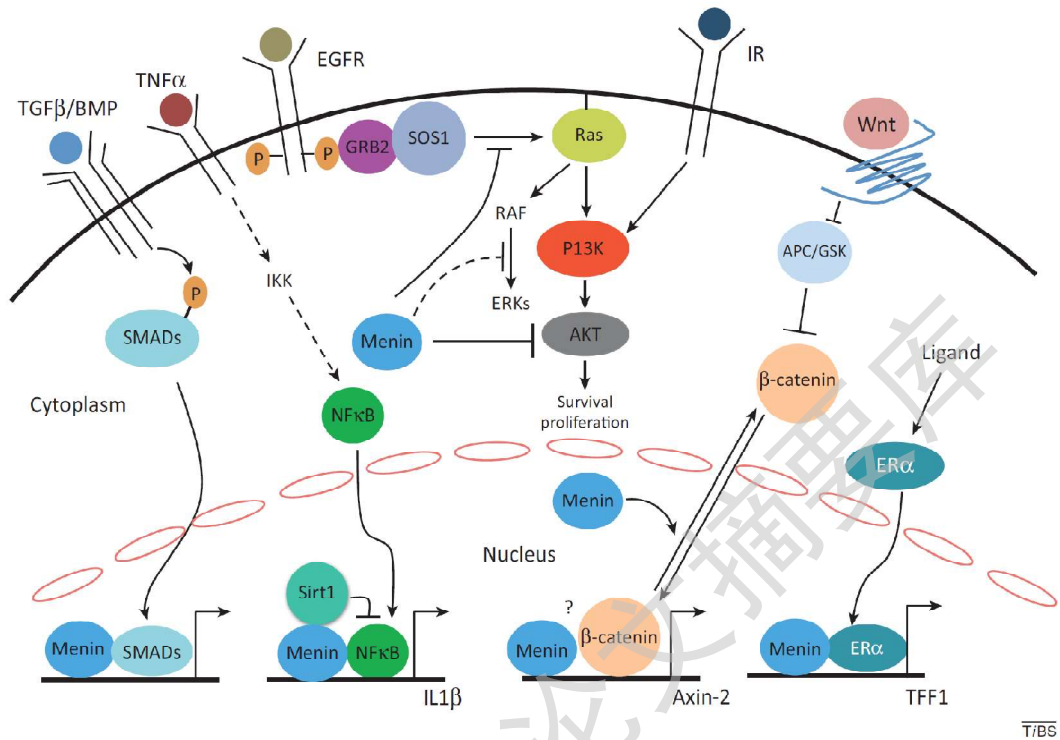


图 1.4 Menin 调节多种信号途径

#### 1.6.4 核受体信号

Menin 能够与一些核受体转录因子相互作用，包括雌激素受体（ER） $\alpha$  和 PPAR $\gamma$ <sup>[61,62]</sup>。Menin 以一种激素依赖性方式直接与 ER $\alpha$  相互作用，并且被招募到 ER $\alpha$  的靶基因三叶形因子（TFF）1。在那里，它可能通过招募 MLL 来增加活性组蛋白标记物 H3K4me3，并激活靶基因的表达（图 1.4）。在 MCF7 乳腺癌细胞中，menin 还可以结合 ER $\alpha$  来增强其活性<sup>[82]</sup>，在经他莫昔芬治疗的 ER 阳性的乳腺癌患者中 menin 的表达与较差的预后有关。目前尚不清楚 menin 是否能够调节内源性 ER 的靶点从而促进正常或转化的乳腺上皮细胞的增殖或存活。

#### 1.6.5 Ras 信号

与 menin 抑制增殖的作用相一致，menin 的过表达可以减缓 Ras 转化的 NIH-3T3 细胞的增殖<sup>[83]</sup>。Menin 抑制细胞外信号调节激酶（ERK）-依赖的磷酸化（Ras 信号途径的下游靶点）以及 JunD 的激活<sup>[84]</sup>。一致的是，menin 也抑制 ERK 的激活和肺癌细胞的迁移<sup>[85]</sup>。ERK 的上游，menin 通过降低活性 Ras-GTP 的水平来拮抗 Ras/ERK 信号。在肺癌细胞中这至少部分通过防止 Ras 鸟嘌呤核苷酸交换因子 SOS1 及其衔接因子生长因子受体结合蛋白（GRB）2 结合到 Ras 来实现（图 1.4）<sup>[19]</sup>。Menin 如何阻断 SOS1 与 Ras 的结合以及其如何精确抑制 ERKs 仍有待确定。



Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.